

氏名	伊 藤 信 久
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 4050 号
学位授与年月日	平成13年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
学 位 論 文 名	Comparison of the neuropathogenicity of two SSPE sibling viruses of the Osaka-2 strain isolated with Vero and B95a cells (Vero細胞およびB95a細胞で分離された亜急性硬化性全脳炎ウイルス大阪2株の2種のウイルスにおける神経病原性の比較)
論文審査委員	主 査 教 授 小倉 壽      副主査 教 授 山野 恒一 副主査 教 授 小林 和夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】亜急性硬化性全脳炎(SSPE)の患者脳から分離されたSSPEウイルスは、ハムスター等の実験動物に対して強い神経病原性を有している。今回、recombinant virusを用いたSSPEウイルスの神経病原性を担う遺伝子を決定する実験の基礎として、SSPEウイルス大阪2株の神経病原性を検討した。特に、発症ハムスター脳からどのような細胞でウイルスを再分離することができるかを検討した。また、再分離されたウイルスの遺伝子解析を行った。

【方法】SSPEウイルス大阪2株は、Vero細胞で分離されたOSA/Fr/Vと、B95a細胞で分離されたOSA/Fr/Bの、2種のsibling virusがある。この2種をハムスターに脳内接種し、発症と進行を経時的に観察した。また、感染ハムスター脳からのウイルスの再分離をVero細胞およびB95a細胞で試みた。再分離ウイルス感染細胞より抽出したRNAより、P遺伝子とM遺伝子の境界領域をRT-PCR法で増幅し、塩基配列を決定し、接種ウイルスのそれと比較した。

【結果】OSA-2/Fr/VあるいはOSA-2/Fr/Bをハムスターに脳内接種したところ、いずれのウイルスを接種したハムスターも極少量で4日から16日までの短時日のうちに発症し、神経症状を呈して死亡した。一方、これら大阪2株の親麻疹ウイルスに近縁である升迫株は脳内接種しても発症しなかった。瀕死のハムスターを殺処分して脳からのウイルス再分離を試みたところ、OSA/Fr/V、OSA/Fr/B共に、Vero、B95a両細胞で分離が可能であった。また、P遺伝子とM遺伝子の境界領域の遺伝子解析を行った結果、接種した親ウイルスと同一の塩基配列をもつウイルスが、Vero細胞、B95a細胞、いずれの細胞を用いても再分離された。

【結語】以上より、SSPEウイルス大阪2株は、reverse geneticsの手法を用いたSSPEウイルスの神経病原性を担う遺伝子の探索に、有用な株であると考えられた。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)から分離されたSSPEウイルスはハムスター等の実験動物に対して強い神経病原性を有している。本研究はrecombinant virusを用いたSSPEウイルスの神経病原性を担う遺伝子変異を決定するための実験システムを確立することを目的として、SSPEウイルス大阪2株の異なるM蛋白発現欠損機構を持つ2種のsibling virus (Fr/VおよびFr/Bウイルス)の神経病原性を検討したものである。その中で、特に、発症ハムスター脳からどのような細胞でウイルスが再分離できるのか、また、再分離ウイ

ルスの遺伝子にさらなる変異が加わるのかにも注目して行われた。

Vero細胞で分離されたFr/VウイルスおよびB95a細胞で分離されたFr/Bウイルスを3週令ハムスターの脳内に接種し、発症と進行を経時的に観察した。感染ハムスター脳からのウイルス再分離にはVeroおよびB95a細胞を用いた。再分離ウイルス感染細胞より抽出したRNAより、P遺伝子とM遺伝子の境界領域をRT-PCR法で増幅し、塩基配列を決定し、接種ウイルスのそれと比較した。

Fr/VウイルスあるいはFr/Bウイルスいずれの接種ハムスターも100plaque forming units (PFU)以下の微量のウイルスで4日から16日の短時日に発症し、神経症状を呈して死亡した。大阪2株の親麻疹ウイルスに近縁の升迫株は $10^5$ PFU以上を接種しても発症しなかった。瀕死のハムスターを殺処分して脳からのウイルス再分離を試みたところ、Fr/VウイルスあるいはFr/BウイルスともにVeroおよびB95a両細胞で分離可能であった。また、PおよびM遺伝子境界領域の遺伝子解析の結果、接種ウイルスと同一の塩基配列を持つウイルスが再分離されたことが判明した。

以上、本論文は、リンパ球で分離されたSSPEウイルスが、上皮系細胞で分離されたSSPEウイルスと同様に、強い神経病原性を保有しており、かつ、これらの神経病原性はM蛋白発現欠損の分子メカニズムの違いに影響されないことを明らかにしたものである。この研究成果は、SSPEウイルスの神経病原性発現機構の一端の解明に寄与したものとして、博士（医学）の学位を授与されるに値すると判定した。